Die Konstitution des Inulins

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Hansischen Universität zu Hamburg

vorgelegt von

WILHELM ELVERS
aus Hamburg

Hamburg 1939

Genehmigt von der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Hansischen Universität, Hamburg, auf Antrag von Herrn Professor Dr. H. H. Schlubach.

Hamburg, den 11. Februar 1939.

Professor Dr. Raethjen, Dekan.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Druck: Hansischer Gilden-Verlag, Hamburg 11, Admiralitätstraße 33/36

Meinen Eltern!

Die vorliegende Arbeit wurde im Chemischen Staatsinstitut der Hansischen Universität Hamburg ausgeführt.

Es sei mir gestattet, meinem Lehrer, Herrn Professor Dr. H. H. Schlubach, auf dessen Anregung und unter dessen Leitung diese Arbeit ausgeführt wurde, meinen ergebensten Dank aussprechen zu dürfen.

Hamburg, im Januar 1939.

Wilhelm Elvers.

INHALT

Seite

Theoretischer Teil .. 7

Einleitung .. 7

A. Inulin .. 8
Reinigung des Inulins .. 8
Der Reduktionswert des Inulins .. 9

B. Triacetylinulin .. 11
Quellung des Inulins im Pyridin .. 11
Darstellung und Reinigung des Acetats .. 12
Eigenschaften des Triacetylinulins .. 12
Entacetylierung und Konstanten des zurückgewonnenen Inulins .. 12

C. Trimethylinulin .. 13
Methylierung des Inulins .. 13
Spaltung und Fruktosidifizierung .. 13
Die Analyse der Spaltprodukte .. 14
Phosphorylierung, Abtrennung der Bariumsalze der Phosphorsäureester und Destillation der Spaltprodukte .. 16

D. Die Konstitution des Inulins .. 17

Versuchsteil:

1. Inulin .. 21
Reinigung des Inulins durch Umfällen aus Wasser .. 21
Der Reduktionswert des Inulins .. 22

2. Triacetylinulin .. 23
Quellung des Inulins im Pyridin .. 23
Acetylierung des Inulins .. 24
Reinigung des Triacetylinulins .. 24
Entacetylierung des Triacetylinulins .. 24

3. Trimethylinulin .. 25
Die Methylierung von Inulin .. 25
Versuche zur Permethylierung von Trimethylinulin mit metallischem Natrium und Lithium und Jodmethyl in flüssigem Ammoniak und Anisol .. 26
Permethylierung von Trimethylinulin mit Dimethylsulfat und Natronlauge .. 28
Konstanten des Trimethylinulins .. 28

4. Spaltung und Analyse der Spaltprodukte des Trimethylinulins .. 29
Spaltung von Trimethylinulin .. 29
Fruktosidifizierung der Spaltprodukte .. 29
Phosphorylierung der Fruktoside .. 29
Abtrennung der Bariumsalze der Phosphorsäureester .. 29
Hochvakuumdestillation der Spaltprodukte .. 30

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548123_0128

VORBEMERKUNG.

Die in dieser Arbeit angegebenen spezifischen Drehungen sind, wenn nichts anderes bemerkt ist, stets bei einer Konzentration c = 2 im 2-dm-Rohr gemessen. Als Lösungsmittel diente beim Inulin Wasser, beim Triacetylinulin und beim Trimethylinulin Chloroform. Die Trocknung betrug 2 Stunden bei 40° an der Wasserstrahlpumpe und 2 Stunden bei 60° im Hochvakuum.

Eine Zusammenstellung der Literatur findet sich am Schluß der Arbeit. Die im Text in ( ) angeführten Zahlen weisen auf sie hin. (Vers.) bezieht sich auf den betreffenden Abschnitt im Versuchsteil.

THEORETISCHER TEIL.

EINLEITUNG.

Bei der Aufklärung der Konstitution der polymeren Kohlenhydrate steht heute die Frage, ob die einzelnen miteinander verbundenen Fruktose- oder Glucosereste eine offene Kette oder einen Ring bilden, im Vordergrund des Interesses. *Haworth, Irvine, Freudenberg* und *Staudinger* glauben aus ihren Arbeitsergebnissen für die Kettenstruktur der Polysaccharide eintreten zu müssen, während *Schlubach* und *Heß* mit ihren Mitarbeitern sehr schöne Beweise für die Ringstruktur derselben aufzeigen konnten.

Die Anschauung, daß die Polysaccharide Kettenstruktur haben, wird von *W. N. Haworth* (16, 19) durch die Endgruppe der Kette belegt. Nach seiner Ansicht muß die Kette am einen Ende einen Kohlenhydratrest tragen, der bei der Methylierung vier Methylgruppen aufnehmen kann, während alle Kettenglieder drei Methylgruppen aufnehmen. Außerdem muß der, das andere Kettenende bildende Fruktose- oder Glucoserest reduzieren. Aus diesen beiden Ergebnissen läßt sich gleichzeitig ein Maß für die Kettenlänge errechnen. Das prozentuale Verhältnis von Tetra- zu Trimethylzucker in den Spaltprodukten des methylierten Kohlenhydrates und der Reduktionswert des freien Kohlenhydrates muß zu gleichen Werten führen, aus denen man auf die Kettenlänge schließen kann. In den meisten Fällen stimmen diese Werte nicht überein. Der Reduktionswert ist im Vergleich zu dem Verhältnis der Methylspaltprodukte viel zu niedrig. *W. N. Haworth* (20) macht deshalb die Annahme, daß die reduzierende Endgruppe durch Anhydridbildung oder Oxydation blockiert wird, die aber unbewiesen bleibt.

K. Heß (23) konnte bei der Untersuchung der gereinigten und methylierten Cellulose keine Tetramethyl-glucose nachweisen und glaubt deshalb die Kettenstruktur zugunsten der Ringstruktur der Cellulose ablehnen zu müssen.

H. H. Schlubach hat sich dem Gebiet der mittelpolymeren Kohlenhydrate zugewandt und die in der Natur vorkommenden zahlreichen Polyfruktosane untersucht. Hier wurden zahlreiche an allen Fruktosanen übereinstimmende Eigenschaften festgestellt:

1. Die Polyfruktosane reduzieren nicht.
2. Zu jedem Gehalt an Tetramethyl-fruktose konnte eine äquivalente Menge an Dimethyl-fruktose nachgewiesen werden. Beide müssen also integrierende Bestandteile der Polyfruktosane sein.
3. Bei allen methylierten Fruktosanen beträgt der Methoxylgehalt 45,6% und dieser Wert konnte in keinem Fall überschritten werden. Diese Ergebnisse lassen sich am besten mit der Annahme der Ringstruktur der Polyfruktosane vereinigen, wenn man keine hypothetischen Voraussetzungen machen will.

Für das höchstpolymere Fruktosan, das Inulin, stand bis jetzt ein eindeutiger Konstitutionsbeweis noch aus. *H. Schmidt* (Diss. Hamburg 1935) konnte durch seine schönen Untersuchungen zeigen, daß das Inulin ein einheitlicher, wohldefinierter Körper und kein Gemisch höherer Polyfruktoside noch ein Associat einer wechselnden Anzahl niedermolekularer Grundkörper ist. Er wies weiterhin nach, daß das Inulin verschiedener Kompositen sich nur durch die verschieden schwere Reinigung unterscheidet. Sowohl aus Dahlien wie auch aus Zichorien und Topinambur konnte ein reines Inulin gewonnen werden, das eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D = -40{,}2°$ besitzt.

Es ist nun das Ziel dieser Arbeit, erst einmal ein wirklich ganz reines Inulin herzustellen, das nach den genau definierten Trocknungsbedingungen, wie sie *H. Schmidt* (40) ausgearbeitet hat, eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D = -40{,}2°$ besitzt. Dieses Inulin darf keinerlei Fällungsmittel oder Lösungsmittel enthalten. Der Reduktionswert muß entfernt sein.

Dieses ganz reine Inulin muß bei der Methylierung einen Methoxylgehalt von 45,6% erreichen. Das erhaltene Methylinulin wird dann mittels Säurehydrolyse in seine Spaltprodukte zerlegt. Die Analyse letzterer zeigt dann, ob neben der Hauptmenge 3,4,6-Trimethyl-fruktose noch 1,3,4,6-Tetramethyl-fruktose und eine dieser äquivalente Menge Dimethyl-fruktose vorhanden ist. Aus diesem Ergebnis kann dann eine Entscheidung darüber gebracht werden, wie das Inulinmolekül gebaut ist. Wird neben der Tetramethyl-fruktose eine entsprechende Menge Dimethyl-fruktose gefunden, so ist damit für die Kettenstruktur des Inulins der Entscheid gefallen; gleichzeitig ließe sich dann aus dem Verhältnis von Tetra- und Di- zu Trimethyl-fruktose die Kettenlänge berechnen. Wenn Tetramethyl-fruktose nicht nachgewiesen werden kann, zeigt dies, daß dem Inulinmolekül Ringstruktur zukommen muß.

A. Inulin.

Reinigung des Inulins.

Das benutzte Inulin wurde aus Dahlienknollen gewonnen. Dieselben waren von *H. Schmidt* aus Samen gezogen und im Herbst geerntet und aufgearbeitet. Auf diese Weise war für ein einheitliches Rohinulin gesorgt; den Aufarbeitungsplan gibt *H. Schmidt* (Diss.). Das Rohinulin zeigte eine Drehung von $[\alpha]_D = -33°$ und einen Reduktionswert von 1,85%, der nach der Bertrand-Methode bestimmt wurde.

Für die Reinigung des Inulins gibt es verschiedene Verfahren. Am meisten wird wohl der Weg beschritten, daß man das Inulin unter Erwärmen auf 80° in Wasser löst, und es dann mit Alkohol wieder fällt. Da aber *H. Schmidt* (40) zeigen konnte, daß das Inulin bei der Fällung mit Alkohol größere Mengen desselben absorbiert und nur schwer wieder abgibt, wollte ich diesen Weg nicht beschreiten. Nach *Dragendorff* (10) scheidet sich das Inulin aus seiner wässerigen Lösung durch Stehenlassen von selbst wieder aus. Auf diese Weise gelangen keine Fällungsmittel an das Inulin und es können keine unkontrollierbaren Reaktionen eintreten. Es bleibt hier nur das System Inulin—Wasser zu überwachen. Die Kontrolle desselben läßt sich verhältnismäßig leicht an Hand von Drehungsbestimmungen und Reduktionswertmessungen ausüben, auf die ich später zurückkommen werde.

Das Inulin wurde in der zehnfachen Menge Wasser unter Rühren und Erwärmen in einem Wasserbad gelöst. Dabei wurde bis auf 80° erwärmt, um das Inulin zu einer klaren Lösung zu bringen. Beim Erwärmen auf niedrigere Temperatur verkleisterte das nicht in Lösung gegangene Inulin während des Ausscheidens und ließ sich beim späteren Umfällen nicht mehr in Lösung bringen. Die Inulinlösungen mußten, um ein Ansteigen des Reduktionswertes zu vermeiden, schnellstens auf Zimmertemperatur abgekühlt werden. Die Lösungen wurden über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen, damit sich das Inulin daraus wieder abscheiden sollte. Dies trat aber bei Rohinulinlösungen nicht ein. Auch nach zweitägigem Stehen war kein Inulin ausgefallen. Ebenso hatte das Aufbewahren im Eisschrank keinen Einfluß. Ich benutzte deshalb die von *H. Kiliani* (25) angegebene Methode des Ausfrierens. Die Inulinlösungen wurden in Eis-Kochsalz-Mischungen eingestellt und darin belassen, bis sie zum Eisblock durchgefroren waren. Nach dem Auftauen der Eisblöcke war alles Inulin bis auf eine kleine Restfraktion in der Mutterlauge ausgeschieden.

Nachdem bei den ersten 6 Umfällungen das Inulin durch Ausfrieren aus den Mutterlaugen herausgebracht worden war, ließ es sich von nun ab durch Stehen über Nacht bei Raumtemperatur abscheiden. Nach weiteren 25 Umfällungen erreichte das Inulin eine Drehung von $[\alpha]_D = -40{,}2°$; die Drehung des in den Mutterlaugen verbliebenen Inulins wies denselben Wert auf. Da durch mehrmaliges weiteres Umfällen dieser Wert nicht mehr geändert werden konnte, glaubte ich annehmen zu können, daß das Inulin sich auf diese Weise nicht weiter reinigen läßt. Dieser Wert wird auch in der Literatur (5, 6, 9, 34, 42) als Drehung des reinsten Inulins angegeben.

Der Reduktionswert des Inulins.

Während der Reinigung meiner Inulinpräparate wurde dauernd die Änderung des Reduktionswertes der Mutterlaugen beachtet. Da der Reduktionswert dauernd schwankte, wurde untersucht, worin dies begründet sein konnte. Die Abhängigkeit des Reduktionswertes von der Größe der Einwaage (Vers. 4), die schon *H. Schmidt* (40) feststellte, konnte ich bestätigen. Einwaagen von weniger als 0,4 g täuschen einen zu geringen Reduktionswert vor. Die verschiedenen Werte konnten auch nicht durch

eine zu kurze oder zu lange Kochzeit (Vers. 3) der Inulinlösungen mit Fehlingscher Lösung bedingt sein, denn selbst bei dreifacher Kochzeit (9 Minuten) war der Reduktionswert noch nicht einmal um 0,1% höher. Aus diesen beiden Versuchen ergab sich, daß die stets wechselnden Werte des Reduktionswertes nicht in der bewährten Bertrand-Methode begründet liegen, sondern durch andere Einflüsse bedingt sind.

Als erstes wurde die Temperaturempfindlichkeit der Inulinlösungen untersucht. Es wurde geprüft, wie sich der Reduktionswert ändert, wenn die Lösung längere Zeit auf eine konstante höhere Temperatur erwärmt wird (Vers. 5). Als konstante Temperatur wurde 100° C gewählt. Die zu untersuchenden Lösungen wurden während genau gemessener Zeiten zum Sieden erhitzt und darin gehalten. Bei annähernd gleichen Einwaagen änderte sich der Reduktionswert bei je 3 Minuten verlängerter Kochzeit um 0,5%. Nach einer Kochzeit von 6 Minuten stieg er um 1% über den Wert, den das zu der Messung verwendete Inulin hatte; er betrug 1,6%.

Wenn bei 100° eine derartig gut meßbare Zersetzung des Inulins in wäßriger Lösung eintritt, wird auch bei der Lösungstemperatur von 80° schon eine Zersetzung des Inulins eintreten. Deshalb mußten die Inulinlösungen beim Auflösen des Inulins sofort, nachdem sie klar geworden waren, in Eiswasser eingestellt werden, um sie schnellstens abzukühlen. Beim langsamen Abkühlen trat Zersetzung ein, wie aus dem größeren Reduktionswert der Mutterlaugen ersichtlich war.

Die Mutterlaugen des Inulins kommen, wenn sie zur Gewinnung des darin befindlichen Inulins im Vakuum eingedampft werden, noch einmal mit der erhöhten Temperatur des Wasserbades in Berührung. Anfangs wurden Temperaturen bis zu 70° benutzt, da dann die zum Einengen benötigte Zeit stark verkürzt wurde. Auch der Einfluß dieser Temperatur wurde einer eingehenden Untersuchung unterzogen (Vers. 6). Aus Inulin mit bekanntem Reduktionswert stellte ich Lösungen her, die in der Konzentration den anfallenden Mutterlaugen entsprachen. Diese wurden bei genau kontrollierten Wasserbadtemperaturen eingeengt und von dem zurückerhaltenen Inulin der Reduktionswert bestimmt. Bei 65° Badtemperatur stieg der Reduktionswert um 0,5%. Bei einer Badtemperatur von 30° blieb er fast konstant. Die Änderung bei dieser Temperatur um 0,04% liegt innerhalb der Fehlergrenze. Es wurden deshalb bei der Reinigung die Mutterlaugen immer bei dieser Temperatur eingedampft, um aus der Änderung des Reduktionswertes des Inulins der Mutterlaugen auf den Reduktionswert der Hauptinulinmenge schließen zu können.

Reduktionswertfreies Inulin konnte ich nicht auf diese Weise erhalten. Der niedrigste Wert bei großen Einwaagen betrug bei den reinsten Inulinfraktionen immer noch 0,5%. Diesen Wert wird man auch nicht unterschreiten können, weil bei der Reinigung durch Umfällen aus Wasser das Inulin, um es in Lösung in Wasser zu bringen, auf 80° erwärmt werden muß. Bei niedrigeren Temperaturen löst sich das Inulin, wie schon erwähnt, nicht klar auf und verkleistert. Bei dieser Temperatur tritt aber Zersetzung ein. Wie aus den Messungen des Reduktionswertes bei 100° hervorgeht, ändert sich dieser anfangs proportional der Zeit, so daß bei längerer Erwärmung auf diese höheren Temperaturen der Reduktionswert

langsam ansteigt. Wenn nun die Erwärmung auf die kürzeste Zeit herabgedrückt wird, die möglich ist, und diese jedesmal die gleiche ist, so stellt sich ein konstanter Reduktionswert ein, der nicht unterschritten werden kann. Dieser ist hier beim Inulin mit 0,5% gegeben. Das Inulin läßt sich also nach dieser Methode durch Umfällen aus Wasser nicht weiter reinigen und muß mit der spezifischen Drehung von $[\alpha]_D = -40{,}2°$ und dem Reduktionswert von 0,5% als rein angesehen werden.

B. Triacetylinulin.

Quellung des Inulins im Pyridin.

Die Acetylierung der Polysaccharide wird meist durch Einwirkung von Essigsäureanhydrid auf die Lösung derselben in Pyridin bei 20° vorgenommen.

W. N. Haworth und *H. R. L. Streight* (21) geben für Inulin die genaue Vorschrift, nach der auch hier gearbeitet werden sollte.

Eine vorher zu überwindende Schwierigkeit bestand im Quellen und Lösen des Inulins im Pyridin. Durch einfaches Schütteln des hochvakuumtrockenen Inulins in dem getrockneten Pyridin ist nur nach sehr langer Zeit eine Lösung zu erreichen. *Haworth* und *Streight* (21) erwärmen unter starkem Rühren die Aufschlämmung des Inulins im Pyridin ¾ Stunden lang auf 80°. Sie erhielten so eine Form, die sich leicht acetylieren ließ. *H. Schmidt* (40) konnte in dieser Zeit nicht zu dem gleichen Ergebnis kommen und verlängerte die Zeit auf 2 Stunden. Ich hielt diese Erwärmung für sehr unzweckmäßig, denn es tritt, wie bei den Reduktionswertmessungen gezeigt worden ist, bereits bei dieser Temperatur nachweisbar Zersetzung ein. Auch *B. B. Westfall* und *E. M. Landis* (44) konnten bei Molekulargewichtsbestimmung mittels thermoelektrischer Dampfdruckmessung beim Inulin zeigen, daß eine 140 Minuten lang auf 95° erwärmte Inulinlösung ein sehr viel geringeres Molekulargewicht ergab.

Ich suchte durch Umlösen des Inulins zum gewünschten Ziele zu gelangen. Dazu war ein erstes Lösungsmittel nötig, das Inulin leicht löst, sich mit Pyridin in jedem Verhältnis mischt und einen tiefen Siedepunkt hat, so daß es, nachdem Inulin in ihm gelöst war und Pyridin hinzugegeben war, leicht entfernt werden konnte. Ein solches wurde in flüssigem Ammoniak gefunden. *F. W. Bergstrom* und *A. E. Gilmore* (2) haben das Verhalten von Inulin in flüssigem Ammoniak eingehend studiert und dabei gefunden, daß keine Reaktion zwischen beiden stattfindet. Ich löste also das trockene Inulin in vorher über Natrium kondensiertem reinem flüssigem Ammoniak und gab dann langsam Pyridin zu. Dabei siedete das Ammoniak ab. Nachdem genügend Pyridin zugegeben war, wurde das Ammoniak energisch abgetrieben. Das Inulin löste sich glatt im Pyridin auf, nur ein kleiner Teil wurde als Gel an der Wand des Gefäßes niedergeschlagen und konnte teils durch Schütteln mit Pyridin über Nacht, teils durch Wiederholen des Verfahrens restlos in Lösung im Pyridin gebracht werden.

Um zu zeigen, daß bei diesem Verfahren keine unerwünschten Reaktionen auftreten, wurde aus einer Probe der Lösung das Inulin zurückgewonnen und seine Konstanten festgestellt. Diese ergaben die gleichen Werte wie beim reinen Inulin.

Darstellung und Reinigung des Acetats.

Nachdem so eine Lösung des Inulins im Pyridin hergestellt worden war, konnte ohne weiteres nach den Angaben von *Haworth* und *Streight* (21) acetyliert werden (Vers. 8).

Es fiel ein Triacetylinulin an, das einen Acetylgehalt von 45,9% aufwies. Die Drehung betrug $[\alpha]_D = -33{,}5°$. Es wurde auch hier wieder eine Probe auf Stickstoff geprüft, um sicher zu gehen, daß das Ammoniak keinerlei Einflüsse auf das Inulin ausgeübt hat. Die Probe fiel negativ aus.

Die Reinigung des Inulinacetats geschah durch fraktionierte Fällung aus Benzol mit Petroläther. Die Verunreinigungen blieben in der Mutterlauge. Nach ungefähr 20 Umfällungen konnte ein Produkt erhalten werden, dessen Mutterlauge die gleiche Drehung besaß wie die Hauptmenge. Durch Aufteilung in 10 gleiche Fraktionen, die alle gleiche Drehung zeigten, wurde die Einheitlichkeit nachgewiesen.

Eigenschaften des Triacetylinulins.

Das so gewonnene reine Triacetylinulin war ein weißes Pulver, das sich leicht in Benzol, Chloroform, Aceton und Pyridin löst. Schwerlöslich ist es in Alkohol und unlöslich in Petroläther und Wasser.

Die spezifische Drehung des Triacetylinulins beträgt in Chloroform gemessen $[\alpha]_D = -37{,}2°$ (2 Stunden an der Wasserstrahlpumpe bei 40° und 2 Stunden im Hochvakuum bei 60° getrocknet).

Entacetylierung und Konstanten des zurückgewonnenen Inulins.

Um festzustellen, welchen Einfluß diese Reinigung auf das Inulin ausgeübt hat, wurde aus einer Probe das freie Kohlenhydrat regeneriert (Vers. 10).

5 g Triacetylinulin wurden nach dem von *G. Zemplén* (45) angegebenen Verfahren durch Einwirkung von Natriummethylat entacetyliert. Das erhaltene Inulin wurde durch Umfällen mit Wasser von Alkohol befreit. Es erwies sich als acetylfrei.

Das Inulin zeigte eine Drehung von $[\alpha]_D = -39{,}2°$ und einen Reduktionswert von 0,3%. Nach einmaligem weiterem Umfällen aus Wasser waren die alte Drehung von $[\alpha]_D = -40{,}2°$ und der Reduktionswert von 0,5% wieder hergestellt.

In bezug auf die Drehung des Inulins hat die Reinigung des Acetats keinen Fortschritt gebracht. Die Reinigung des Inulins durch Umfällen aus Wasser war also bis zu Ende durchgeführt. Beim Triacetylinulin konnte kein Reduktionswert festgestellt werden; erst bei der Einwirkung von Wasser auf die entacetylierte Substanz tritt er wieder auf. Nach dem ersten Umfällen des Inulins beträgt er nur 0,3% und steigt bei weiterem Umfällen auf den alten konstanten Wert von 0,5%.

C. Trimethylinulin.

Methylierung des Inulins.

Das Inulin wurde nach dem von *Haworth* und *Streight* (21) angegebenen Verfahren methyliert. *Heß* und *F. Neumann* (23) konnten bei der Methylierung von Cellulose zeigen, daß der Luftsauerstoff zersetzend auf die Methylierungsprodukte einwirkt. Bei unter Luftzutritt methylierter Cellulose läßt sich in den Spaltprodukten der Methylcellulose in wechselnder Menge Tetramethyl-methylglucosid nachweisen, während bei unter Luftausschluß dargestellter Methylcellulose kein Tetramethyl-methylglucosid nachgewiesen werden konnte.

Ich habe, um den Luftsauerstoff auszuschließen, immer unter Stickstoff gearbeitet. Vor Beginn der Methylierung wurde durch die acetonische Lösung des Triacetylinulins während einer halben Stunde ein lebhafter Stickstoffstrom geleitet und derselbe während der Methylierung beibehalten.

Es wurden insgesamt 10 Ansätze methyliert (Vers. 11), die ein Methylinulin mit 39 bis 44% Methoxyl ergaben.

Den theoretischen Methoxylgehalt von 45,6% versuchte ich nun durch Behandlung mit Alkalimetall in flüssigem Ammoniak und mit Jodmethyl zu erreichen. Diese elegante Methode ist von mehreren Forschern (11, 12, 13, 22, 31, 39) mit Erfolg zur Methylierung von Kohlenhydraten angewandt worden. Bei der Einwirkung von Kalium in flüssigem Ammoniak auf Methylinulin trat sofortige Braunfärbung der Substanz ein, was auf Zersetzung des Trimethylinulins hinwies. Die Versuche mit Natrium (Vers. 12) ergaben trotz kürzester Einwirkungszeit und Beachtung aller bei der Methylierung des Galaktogens durch *W. Loop* (39) gemachten Erfahrungen eine Entmethylierung des Methylinulins. Ebenso führte der Versuch mit Lithium zu einer Entmethylierung (Vers. 13).

Es wurde deshalb zu der alten Methode zurückgegriffen und nach zweimaliger Wiederholung der Behandlung mit Dimethylsulfat und Natronlauge ein Trimethylinulin mit 45,6% Methoxyl erhalten (Vers. 14).

Das so erhaltene Trimethylinulin ist ein in Chloroform und Benzol lösliches, weißes Pulver; in Wasser und Petroläther ist es unlöslich. Es schmilzt bei 138° zu einer farblosen Flüssigkeit. Die Drehung des je 2 Stunden im Wasserstrahlpumpenvakuum bei 40° und im Hochvakuum bei 60° getrockneten Trimenthylinulins beträgt $[\alpha]_D = -53{,}8°$ in Chloroform und $[\alpha]_D = -44°$ in Benzol (c=2; 1 dm).

Spaltung und Fruktosidifizierung.

Das Trimethylinulin wurde nach der von *W. N. Haworth* und *A. Learner* (18) angegebenen Methode mit alkoholischer Oxalsäure gespalten (Vers. 16).

Die erhaltenen Spaltprodukte wurden nach Abdampfen mit einem Benzol-Alkohol-Gemisch von den letzten Spuren Wasser befreit und fruktosidifiziert (Vers. 17). Letzteres wurde durch Lösen derselben in 1%iger methylalkoholischer Salzsäure bewirkt. Nach 24stündigem Stehen war die Fruktosidifizierung vollständig, wie durch den Reduktionswert nachgewiesen wurde.

Die Analyse der Spaltprodukte.

Für die Analyse der fruktosidifizierten Spaltprodukte stehen nun zwei Methoden, die an den Spaltprodukten der Methylcellulose und Methylstärke ausgearbeitet sind, zur Verfügung. Erstens die von *W. N. Haworth* und *H. Machemer* (19) angegebene der fraktionierten Destillation und zweitens die von *F. Neumann* und *K. Hess* (33) ausgearbeitete Methode. Letztere führt alle die Spaltprodukte, die freie Hydroxylgruppen tragen, in in Äther und Petroläther unlösliche Bariumsalze der Phosphorsäureester über und destilliert zum Schluß den in den angewandten Lösungsmitteln löslichen Pentamethylzucker.

Es war nun zu überlegen, welches Verfahren für die Anwendung auf die Spaltprodukte des Methylinulins als das günstigere erschien.

W. N. Haworth und *H. Machemer* (19) trennen die Spaltprodukte durch einfache Hochvakuumdestillation und berechnen anschließend aus den Brechungsexponenten den Gehalt an Tetramethyl-methylzucker. Sie destillieren dabei den geringen Anteil an leichter-flüchtigem Bestandteil aus dem größeren Überschuß an schwerer-flüchtigem Anteil. Nach Erfahrungen bei der Destillation der Spaltprodukte anderer methylierter Kohlenhydrate ist diese Trennung niemals quantitativ. Es gehen bei der Destillation neben dem Tetramethyl-methylzucker noch beträchtliche Mengen Trimethyl-methylzucker über. Außerdem treten leicht Destillationsverluste auf. Der Brechungsexponent ist außerdem in diesem Fall nach meiner Meinung keine sichere Konstante, denn die Alpha- und Beta-Form der Glucoside haben verschiedene Brechungsexponenten und das Mischungsverhältnis beider ist in den Glucosiden der Spaltprodukte nicht bekannt. Der Brechungsexponent der Tetramethyl-methylglucose und Trimethyl-methylglucose ist also stets ein zufälliger Wert, der sich aus der Mischung von Alpha- und Beta-Form ergibt.

Die von *F. Neumann* und *K. Heß* (33) ausgearbeitete Trennungsmethode für die Spaltprodukte führt diejenigen Spaltprodukte, die nach der Glucosidifizierung noch freie Hydroxylgruppen im Molekül haben, in die Bariumsalze ihrer Phosphorsäureester über. Das sind das Trimethyl- und Dimethyl-methylglucosid, während das Tetramethyl-methylglucosid keinen Phosphorsäureester bilden kann. Die Phosphorylierung wird mit Phosphoroxychlorid in Pyridin vorgenommen. Anschließend wird mit Bariumhydroxyd neutralisiert. Beim Aufnehmen in Aceton löst sich darin alles bis auf das Bariumphosphat; letzteres ist aus überschüssigem Phosphoroxychlorid entstanden. Versetzt man nun die Lösung mit einem großen Überschuß an Äther, so werden die Bariumsalze der Phosphorsäureester ausgefällt, da sie in Äther unlöslich sind. Sie können abfiltriert werden und in der ätherischen Lösung verbleiben Tetramethyl-methylglucosid und geringe Mengen der Phosphorsäureester. Nach starkem Einengen wird mit Petroläther versetzt, der die verbliebenen Reste der Ester ausfällt. Die filtrierte klare Lösung wird eingedampft im Destillierkolben noch in benzolischer Lösung mit metallischem Natrium gekocht. Das Tetramethyl-methylglucosid erweist sich gegen diese Behandlung beständig, während alle Verunreinigungen davon

zerstört werden. Nach Abdunsten des Benzols kann nun das Tetramethyl-methylglucosid destilliert werden.

Ein Nachteil dieses Verfahrens ist, daß die Di- und Trimethyl-methylglucoside nicht mehr getrennt werden können. Man kann deshalb nicht feststellen, ob zu einem bestimmten Gehalt an Tetramethyl-methylglucosid ein entsprechender Gehalt an Dimethyl-methylglucosid vorhanden ist.

F. I. Averill und *S. Peat* (1) glauben aus ihren Versuchen gegen diese Methode einwenden zu müssen, daß die Phosphorylierung nicht vollständig sein kann. Sie lehnen diese Methode deshalb als unbrauchbar ab. Sie können aus einem Gemisch von Tetramethyl- und Trimethyl-methylglucosid, das sie genau nach der Vorschrift von *Heß* und *Neumann* behandelt haben, nach 30 Stunden Destillationsdauer mehr herausdestillieren, als sie an Tetralmethyl-methylglucosid zum Gemisch benutzt haben. Wenn auch dieser Einwand vielleicht zu Recht besteht, so gestattet diese Methode doch, einen ganz großen Teil des Trimethyl-methylglucosids herauszubringen, so daß nachher in bezug auf das Tetramethyl-methylglucosid ein bei weitem günstigeres Mischungsverhältnis für die Destillation vorliegt als bei der *Haworth*schen Methode.

Für die vorliegende Arbeit habe ich mich für die von *Heß* und Mitarbeiter angegebene Methode entschieden. Bevor sie auf meine Spaltprodukte angewandt wurde, habe ich in Versuchen (Vers. 20, 21) erst einmal den Einfluß des metallischen Natriums im siedenden Benzol auf die zu erwartenden Spaltprodukte Tetramethyl-methylfruktosid und Trimethyl-methylfruktosid untersucht, das gegebenenfalls bei nicht vollständiger Phosphorylierung auftreten könnte. Das Tetramethyl-methylfruktosid erwies sich als gegen diese Behandlung beständig. Von 120,3 mg Tetramethyl-methylfruktosid mit 61,3% Methoxyl (ber. 62,0%) konnten nach dem Kochen mit metallischem Natrium und der in dem von *Heß* und *Neumann* angegebenen Destillationsgefäß ausgeführten Destillation 117,4 mg mit 61,7% OCH_3 zurückerhalten werden. Der Verlust betrug 2,9 mg.

Anders war das Ergebnis bei dem Versuch mit Trimethyl-methylfruktosid. Vor dem Versuch zeigte dieses einen Gehalt von 51,1% Methoxyl (ber. 52,6%), während nach der Destillation ein Produkt mit nur 42,0% Methoxyl erhalten werden konnte. Dieser Wert liegt in der Nähe der Trimethyl-fruktose und zeigt, daß hier Methoxylgruppen abgespalten worden sind. Im ersten Versuch war das metallische Natrium, wie auch bei *Heß* und *Neumann* angegeben, nur mit einem dünnen braunen Belag versehen, während im zweiten Versuch der gesamte Kolbeninhalt dunkelbraun verfärbt war. Ich darf noch erwähnen, daß selbstverständlich beide Versuche unter gleichen Bedingungen durchgeführt worden sind.

Überträgt man diese Ergebnisse einmal auf den Destillationsversuch von *Averill* (1), so ergibt sich folgendes Bild: In diesem Fall wurde 30 Stunden lang destilliert. Es ist wohl bei einer derartig langen Destillationsdauer kaum anzunehmen, daß nicht auch schwerer-flüchtige Anteile der zu destillierenden Substanz mit übergehen. Berechnet man nun nach der Mischungsregel aus den Methoxylgehalten die mengenmäßigen Anteile der beiden Komponenten an dem erhaltenen Destillat, wobei aber

vorausgesetzt ist, daß sich das Trimethyl-methylglucosid ebenso verhält wie das Trimethyl-methylfruktosid, also zu Trimethylglucose zersetzt wird, so findet man, daß in 79,7 mg Destillat mit einem Methoxylgehalt von 55,2% 46,4 mg Tetramethyl-methylglucosid enthalten sein müßten. Da bei diesem Versuch aber 48,2 mg Tetramethyl-methylglucosid angesetzt wurden, beträgt der Verlust nur 2,4 mg Tetramethyl-methylglucosid. Dieser Wert liegt in der Fehlergrenze, die *Heß* und *Neumann* für ihre Methode angeben.

Durch die Zersetzung des Trimethyl-methylfruktosids beim Kochen mit Natrium in Benzol werden die Destillationsbedingungen nur noch günstiger, denn der Siedepunkt der methylierten Kohlenhydrate steigt mit abnehmendem Methoxylgehalt. Bei dem bei den Hochvakuumdestillationen herrschenden Druck von 10^{-4} mm Hg destillierte das Tetramethyl-methylfruktosid bei 30° Bad, während die Destillationsprodukte des zersetzten Trimethyl-methylfruktosids erst bei mehr als 120° Bad übergingen. Bei einer derartigen Temperaturdifferenz dürfte es leicht sein, durch die Destillation beide Komponenten zu trennen.

Phosphorylierung, Abtrennung der Bariumsalze der Phosphorsäureester und Destillation der Spaltprodukte.

Die Phosphorylierung wurde nach der Vorschrift von *F. Neumann* und *K. Heß* (33) durchgeführt (Vers. 18).

Die fruktosidifizierten Spaltprodukte des Methylinulins wurden zu diesem Zweck in absolutem Pyridin gelöst und erst eine halbe Stunde bei —20° und anschließend über Nacht bei Zimmertemperatur mit Phosphoroxychlorid behandelt. Das überschüssige Phosphoroxychlorid wurde dann mit einem Wasser-Pyridin-Gemisch hydrolisiert und dann mit Bariumhydroxyd neutralisiert. Die Abtrennung der Bariumsalze des Phosphorsäure-trimethyl-methylfruktosid-esters von dem Tetramethyl-methylfruktosid ließ sich nicht nach der Vorschrift durchführen. Die durch Zusatz von Äther ausgefällten Bariumsalze der Ester aus der acetonischen Lösung verstopften die Filterporen. Es wurden deshalb alle Lösungsmittel abgedampft und mit Wasser aufgenommen. Nun wurde das Ganze mit Äther extrahiert. Da das Tetramethyl-methylfruktosid im Äther leicht löslich ist, mußte es glatt neben geringen Mengen Phosphorsäureester in den Äther gehen. Letztere konnten durch Zusatz eines großen Überschusses Petroläther leicht gefällt und dann abfiltriert werden.

Die erhaltene Lösung wurde nun stark eingeengt und in den von *F. Neumann* und *K. Heß* (33) angegebenen Destillierkolben überführt. Beim Kochen mit metallischem Natrium in Benzol färbte sich der Kolbeninhalt dunkelbraun. Nach dem Abdampfen des Benzols bei Atmosphärendruck blieb ein dicker dunkelbrauner Sirup, der sofort anschließend der Destillation unterworfen wurde. Bei den in den Vorversuchen ermittelten Versuchsbedingungen zur Destillation des Tetramethyl-methylfruktosids (10^{-4} mm Druck und 30° Bad) konnte nach einstündigem Destillieren kein Destillat aufgefangen werden. Es wurde deshalb ganz langsam die Temperatur des Bades erhöht. Bei 50° Bad entstanden vereinzelt Blasen im Sirup und erst bei 80° Bad konnte ein Destillat aufgefangen werden,

das 45,6% Methoxyl ergab. Da die Kühlschlange im Kolben mit Eissole von —10° gekühlt wurde, konnte auch kein Tetramethyl-methylfruktosid in die Pumpe abdestilliert sein. In den Spaltprodukten des Methylinulins konnte also kein Tetramethyl-methylfruktosid gefunden werden.

Das Destillat mit 45,6% Methoxylgehalt entspricht dem Ergebnis im Vorversuch. Diese Substanz wird aus Zersetzungsprodukten des Trimethyl-methylfruktosids bestehen, die entweder aus unphosphorylierten Anteilen oder aus durch die Behandlung mit metallischem Natrium im siedenden Benzol zersetztem Bariumsalz des Trimethyl-methylfruktosidphosphorsäureesters herrühren.

D. Die Konstitution des Inulins.

Die Trimethylfruktose baut also allein das Molekül des Methylinulins auf und es ergibt sich zum Schluß die Frage, wie sind diese Fruktosereste miteinander im Molekül verknüpft.

Durch die Untersuchungen von *W. N. Haworth, E. L. Hirst* und *E. G. V. Percival* (17, 18) wurde die Konstitution der Trimethyl-fruktose zu 3,4,6-Trimethyl-frukto-furanose aufgeklärt. Diese Angaben konnten *H. H. Schlubach* und *H. Knoop* (27) sowie *I. C. Irvine* und *F. N. Montgomery* (24) bestätigen. Es bleibt für die Bindung nur die Verknüpfung von der fruktosidischen Hydroxylgruppe des einen Fruktoserestes zum ersten C-Atom des anderen.

Bilden die Fruktosereste nun eine Kette oder einen Ring? Auf diese Frage gibt der Befund bei der Destillation die Antwort. *W. N. Haworth* und *H. Machemer* (19) fordern in ihrer Theorie der kettenförmigen Verknüpfung der Zuckerreste in den Polysacchariden als Endgruppe der Kette eine 1,3,4,6-Tetramethyl-fruktose. Das dieser Verbindung entsprechende Fruktosid konnte aber bei der Destillation nicht nachgewiesen werden. Dieses kann nun zwei Gründe haben, entweder es ist keine vorhanden, oder die Menge ist so gering, daß sie sich mit dieser Methode nicht mehr nachweisen läßt. Im ersten Fall müßte man Ringstruktur für das Inulin annehmen. Für den zweiten Fall käme man zu den gleichen Überlegungen, wie sie *K. Heß* und *F. Neumann* (23) bei der Konstitutionsaufklärung der Cellulose gemacht haben. Sie stellen fest, daß mit der von ihnen ausgearbeiteten Methode noch wenige Milligramm Tetramethyl-methylglucosid nachweisbar sind. Bezieht man diese auf die zur Analyse verwendete Menge Methylcellulose, so kommt man zu Kettenlängen von mehreren 10 000 C_6-Resten. Derartige Riesenmoleküle erscheinen ihnen für die Cellulose selbst als sehr unwahrscheinlich. Sie halten es deshalb für sehr wahrscheinlich, daß die Cellulose ein ringförmiges Gebilde darstellt, wobei man keinen Anhaltspunkt für die Zahl der Ringglieder hat. Sie sagen: „Da für die Annahme eines Riesenmoleküls des angegebenen Umfangs in offener Kette zur Zeit keine zwingenden Gründe vorliegen, diese Möglichkeit gegenüber den experimentellen Befunden der vorliegenden Untersuchung jedenfalls recht gekünstelt erscheint, so kommt nur ein Ringmolekül in Frage." Die gleiche Forderung kann man hier beim Inulin erheben, da der gleiche Arbeitsweg gewählt wurde.

Beim Inulin liegen aber einige Anhaltspunkte für die Ringgröße vor. Das Molekulargewicht des Inulins ist mit verschiedenen Methoden bestimmt worden, und man kommt immer zu einem Wert von 5100, der 30 Fruktoseresten entspricht. *E. Berner* (4) findet für gut getrocknetes Inulin nach der kryoskopischen Methode Werte bis zu 4900. *B. B. Westfall* und *E. M. Landis* (44) bestimmten das Molekulargewicht von reinstem Dahlieninulin mittels thermoelektrischer Dampfdruckmessungen zu 5100 im Mittelwert. *S. R. Carter* und *B. R. Record* (8) fanden das Molekulargewicht von Methylinulin zu 6300 und von Acetylinulin zu 8900. Beide Werte ergeben umgerechnet auf Inulin ungefähr den von den anderen Forschern erhaltenen Wert von 5100. Die von vielen Forschern gefundenen sehr niedrigen Molekulargewichte für das Inulin, die auf Difruktosid schließen lassen, finden wohl ihre Erklärung in dem verwendeten Inulin. Entweder war dasselbe nicht genügend gereinigt oder es hatte Lösungs- und Fällungsmittel absorbiert, die von der Reinigung herrühren.

Die nicht genügende Reinigung des Inulins wird wohl auch der Grund für die von mehreren Forschern in den Spaltprodukten des Methylinulins gefundene Tetramethyl-fruktose sein. *W. N. Haworth* und Mitarbeiter (21) verwenden bei ihren Untersuchungen ein Inulin, das nach ihren Angaben eine Drehung von $[\alpha]_D = -36°$ aufweist, während das reine Inulin $[\alpha]_D = -40{,}2°$ zeigt. Weiterhin schließen sie bei der Methylierung nicht den Luftsauerstoff aus, so daß er, wie *K. Heß* und *F. Neumann* (23) bei der Cellulose zeigen konnten, zersetzend auf das entstehende Methylinulin einwirken kann. Wie leicht das Inulinmolekül angegriffen werden kann, geht wohl aus meinen Reduktionswertmessungen hervor. Durch diese Einflüsse wird wohl der Gehalt von 3,7% Tetramethyl-fruktose in den Spaltprodukten am einfachsten erklärt. *J. C. Irvine* und *F. N. Montgomery* (24) können bei ihren Untersuchungen nur 1,7 bis 2,7% Tetramethyl-fruktose nachweisen. Auch hier wird dieser Befund durch den zersetzenden Einfluß des Luftsauerstoffs wohl zu deuten sein. Wenn die Tetramethyl-fruktose am Aufbau des Methylinulins teil hätte, müßte doch von beiden Forschern eine gleich große Menge gefunden sein. So ergäbe sich bei *Haworth* und Mitarbeiter eine Kettenlänge von 30 Fruktoseresten, während nach *Irvine* und *Montgomery* 50 gefordert werden müßten. Außerdem müßte das andere Kettenende ja reduzieren, wenn man nicht die in keiner Weise begründete Annahme der Anhydridringbildung oder Oxydation gelten lassen will. Der Reduktionswert aber konnte durch die Reinigung beseitigt werden und eine unvorsichtige Handhabung des Inulins bei der Reinigung ließ bei einer Umfällung die Arbeit vieler vorhergehender Umfällungen wieder hinfällig werden. Es ist also durch die richtige Wahl der Reinigungsbedingungen prinzipiell möglich, jeden gewünschten Reduktionswert herzustellen; ihn zu entfernen ist sehr viel schwerer. Bei dieser Arbeit wurde reduktionswertfreies Inulin für die Arbeit verwendet; der Reduktionswert konnte ja durch die Reinigung des Acetats entfernt werden, wie bei der Entacetylierung gezeigt ist.

Für das Inulin muß man also noch eher als bei der Cellulose die Ringstruktur des Moleküls anerkennen. Diese ist auch für sehr viele

Zusammenstellung der bisher untersuchten Polyfruktosane.

	Irisin	Tritizin	Graminin	Sinistrin	Asparagosin	Inulin
Vorkommen	Iridaceen	Gramineen		Liliaceen		Compositen
spez. Drehung $[\alpha]_D$	—54,7°	—51,4°	—44,5°	—44,5°	—32,6°	—40,2°
$[\alpha]_D$ Acetat (Chlf)	—19,3°	—15,5°	— 7,2°	—23,5°	—20,1°	—37,2°
$[\alpha]_D$ Methylprod. (Chlf)	—63,2°	—61,2°	—48,0°	—57,0°	—47,8°	—53,8°
Löslichkeit im Wasser	schwerl.	∞	∞	∞	∞	unlösl.
Hygroskopizität	—	—	+	+	+	—
H. U. Z. (Minuten)	225	216	214	269	300	382
Teilchengröße	18	14 od. 21	12	15	10	30
Tetra : Tri : Di	1:0:1	3:1:3	1:2:1	1:3:1	1:8:1	0:1:0
Konstitution der Tetra	1, 3, 4, 6-Tetramethylfruktose					—
Konstitution der Tri	—	nicht 3, 4, 6		3, 4, 6-Trimethylfruktose		
Konstitution der Di	3, 6 ?	1, 3 ?	3, 6 ?	1, 3 ?	3, 6 ?	—

andere Fruktosane durch *H. H. Schlubach* und seine Mitarbeiter (7, 28, 29, 30, 35, 37, 38) sehr wahrscheinlich gemacht worden. Man kann doch

auch nicht annehmen, daß bei den Polyfruktosanen teilweise Ring- und teilweise Kettenstruktur vorliegt. Ein weiteres hier einzuwerfendes Argument ist nämlich folgendes: Beim Irisin, dem Fruktosan der Iridaceen, konnten *H. H. Schlubach, H. Knoop* und *M. Y. Liu* (37) nur Tetra- und Dimethyl-fruktose in den Spaltprodukten der methylierten Substanz nachweisen. Da ersteres die eine Endgruppe und das andere die andere Endgruppe der nach der *Haworth*schen Kettentheorie geforderten Kette ist, besteht beim Irisin die Kette nur aus zwei Gliedern und man müßte notgedrungen auf ein Disaccharid schließen. Die Eigenschaften des Irisins stimmen aber bei weitem nicht mit denen der Disaccharide überein.

Das hier für das Irisin Gesagte gilt gleichermaßen für das Galaktogen. *H. H. Schlubach* und *W. Loop* (39) konnten zeigen, daß das Verhältnis der Di- zu Tetramethylgalaktose in den Spaltprodukten des methylierten Galaktogens wie 1:1 ist. Aus diesen Ergebnissen, sowie aus den Versuchsergebnissen bei der Cellulose kann man wohl die Feststellung der ringförmigen Verknüpfung der Zuckerreste auf alle Polysaccharide erweitern und feststellen: Die Polysaccharide haben Ringstruktur.

Es bleibt nun nur der experimentell nachgewiesene Gehalt an Tetramethyl-fruktose und Dimethyl-fruktose noch zu erklären. Beide wurden immer, wo sie nachgewiesen wurden, in äquivalenter Menge gefunden. Die Kohlenhydrate, in deren gespaltenen Methylprodukten sie nachgewiesen werden konnten, reduzieren nicht. Die Dimethyl-fruktose kann also nicht von einem freien Ende einer Kette herrühren, wenn man nicht die *Haworth*schen Annahmen gelten lassen will. Man muß vielmehr annehmen, daß sie ein Glied des Ringes der Fruktosereste im Molekül des Kohlenhydrats bildet und daß an der bei der Methylierung nicht mitmethylierbaren Hydroxylgruppe eine Seitenkette hängt, die als Endgruppe dann einen zur Tetramethyl-fruktose methylierbaren Fruktoserest trägt. Es ergibt sich also als zweite Forderung: Wenn Tetramethylfruktose oder -glucose bei der Spaltung eines methylierten Kohlenhydrates gefunden wird, so stammt sie aus Seitenketten des Ringes.

Die Polysaccharide sind also einheitliche, wohldefinierte Verbindungen, von denen jedes einzelne seine spezifische Molekülstruktur besitzt. Dies geht schon aus den Reinigungsmethoden hervor. Das reine Inulin zum Beispiel ist eine Substanz, die aus den Kohlenhydraten der Dahlienknolle durch fraktionierte Umfällung aus Wasser erhalten werden kann. Und zwar bildet es die in Wasser am schwersten lösliche Fraktion. Es läßt sich nur bis zu einer Drehung von $[\alpha]_D = -40{,}2°$ reinigen, und eine weitere Aufteilung ergibt, daß es einheitlich ist. Es sei zum Schluß noch darauf hingewiesen, daß die von *Staudinger* an den Polystyrolen gemachten Untersuchungen sich somit nicht auf die Polysaccharide übertragen lassen. Er arbeitet unter der Voraussetzung, daß die Polysaccharide wie die Polystyrole kettenförmig verknüpft und Polymerhomologe sind. Beide Voraussetzungen sind durch die oben ausgeführten Versuche widerlegt. Aus diesen Überlegungen und Experimenten folgt: Bei den Polysacchariden gibt es keine polymerhomologen Reihen.

VERSUCHSTEIL.

1. Inulin.

Reinigung des Inulins durch Umfällen aus Wasser.

Versuch 1: Das Rohinulin wurde in Ansätzen von je 300 g in der 10fachen Menge Wasser bei 80° gelöst. Bei niedrigeren Temperaturen löste sich das Inulin nicht so klar auf. Es wurde durch Kieselgur zur Entfernung von Schmutz und nicht ganz gelöster Teile filtriert und dann möglichst schnell auf Zimmertemperatur abgekühlt. Beim Versuch, die kalte Lösung zu filtrieren, wurde das Kieselgur durch das nur angequollene und nicht gelöste Inulin so verklebt, daß dieses nichts mehr durchließ. Nunmehr ließ ich es über Nacht stehen, damit sich das Inulin abschied, da es ja in kaltem Wasser unlöslich ist. Bei diesem unreinen Inulin trat dieses jedoch nicht ein. Die Lösung wurde deshalb in Eis-Kochsalz-Mischung eingestellt und ausgefroren. Nach dem Auftauen der bis zum festen Eisblock durchgefrorenen Lösung war das Inulin als feines weißes Pulver abgeschieden und konnte durch Zentrifugieren von der Mutterlauge getrennt werden. Die gelbfärbenden Anteile des Rohinulins blieben in der Mutterlauge. Das angefallene Inulin wurde von neuem gelöst. Nach 5 bis 6 Umfällungen war das Inulin soweit gereinigt, daß es über Nacht durch Stehen sich aus seiner Mutterlauge abschied. Bei den folgenden Umfällungen konnte dann auf das Ausfrieren verzichtet werden.

Die fortschreitende Reinigung wurde an der Änderung der spezifischen Drehung verfolgt. Die Proben zur Drehungsbestimmung von der Substanz und den Mutterlaugen wurden nach den von *H. Schmidt* (40) ausgearbeiteten Normalbedingungen für das Inulin getrocknet. Nach zweistündiger Trocknung am Wasserstrahlpumpenvakuum bei 40° wurde fein im Achatmörser pulverisiert und dann zwei Stunden am Hochvakuum bei 60° belassen.

Auf diese Weise konnte nach ungefähr 30 Umfällungen ein Inulin erhalten werden, das eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D = -40{,}2°$ hatte. Durch weiteres Umfällen konnte dieser Wert nicht unterschritten werden. Aus je 300 g Rohinulin wurden so 60 g reines Inulin erhalten.

Der Reduktionswert des Inulins.

Alle Reduktionswerte wurden nach der Methode von *Bertrand* bestimmt und nach der von *H. Knoop* (26) aufgestellten Fruktosetabelle berechnet.

Versuch 2: Das Rohinulin zeigte einen Reduktionswert von 1,85% (0,4152 g; 0,4156 g gaben 13,6 mg; 14,0 mg Cu = 7,6 mg; 7,8 mg Fruktose Reduktionswert [RW] = 1,83%; 1,88%).

Abhängigkeit des Reduktionswertes von der Kochzeit:

Versuch 3: Es wurde untersucht, ob der Reduktionswert (RW) bei Verlängerung der Kochzeit mit der Fehlingschen Lösung zunimmt. Damit das Volumen der Lösung bei der verlängerten Kochzeit durch Verdämpfen des Wassers sich nicht änderte, wurde von Zeit zu Zeit Wasser zugesetzt.

3 Minuten	Kochzeit	0,4128 g	Einwaage	RW = 1,26%
6 „	„	0,4024 g	„	RW = 1,29%
9 „	„	0,4060 g	„	RW = 1,33%

Die Änderung des Reduktionswertes bleibt also innnerhalb der Fehlergrenze.

Abhängigkeit des Reduktionswertes von der Einwaage:

Versuch 4: Es wurden zu diesem Zweck von einer Inulinprobe verschieden große Mengen zur Reduktionswertmessung eingewogen. Im übrigen wurden die Vorschriften für die Bertrandmethode genau eingehalten. Das Ergebnis war das gleiche wie bei *H. Schmidt* (40); bei zu kleiner Einwaage wird ein zu niedriger Reduktionswert vorgetäuscht. Die Grenze, bei der man noch brauchbare Werte erhält, liegt bei 0,4 g.

Einwaage	Kochzeit	Reduktionswert
0,1628 g	3 Minuten	0,55%
0,4000 g	3 „	0,94%
1,2030 g	3 „	0,92%
2,4630 g	3 „	0,96%

Der wahre Reduktionswert dieser Inulinprobe lag also bei 0,9%.

Die Temperaturempfindlichkeit von Inulinlösungen gemessen am Reduktionswert.

Versuch 5: Es wurde untersucht, wie sich der Reduktionswert ändert, wenn die Inulinlösung einige Zeit auf 100° erwärmt wurde.

Das in 20 ccm Wasser gelöste Inulin wurde in 1½ Minuten zum Sieden erhitzt und dann gemessene Zeit dabei belassen. Anschließend wurde sofort mit Fehlingscher Lösung versetzt und der Reduktionswert bestimmt.

Reduktionswert der benutzten Inulinlösung:

0,4068 g Inulin gaben 14,7 mg Cu = 2,6 mg Fruktose. Reduktionswert = 0,64%.

Einwaage	Kochzeit	Reduktionswert
0,4144 g	3 Minuten	1,06%
0,4020 g	6 „	1,54%
0,4068 g	6 „	1,6 %

Bei 100° tritt nach obiger Tabelle schon sehr starke Zersetzung ein. Wie sich die Wasserbadtemperatur beim Eindampfen der Mutterlaugen auswirkte, wurde aus einer anderen Versuchsreihe ermittelt.

Versuch 6: 3 bis 4 g Inulin mit bekanntem Reduktionswert wurden in 1 bis 2 Liter Wasser gelöst. So erhielt ich ungefähr die Konzentration an Inulin, die in den Mutterlaugen vorlag. Diese Lösung wurde wie die Mutterlaugen aus einem Wasserbad mit bekannter Temperatur am Wasserstrahlpumpenvakuum eingedampft. Das Inulin wurde nun getrocknet und dann der Reduktionswert bestimmt.

1. Verwendetes Inulin: 0,55% RW (0,2764 g; 2,85 mg Cu = 1,53 mg Fruktose).
   Dieses Inulin wurde aus Wasser eingedampft bei 65° Badtemperatur: 1,1% RW (0,3284 g; 6,54 mg Cu = 3,65 mg Fruktose).
2. Verwendetes Inulin: 0,67% RW (0,4028 g; 4,86 mg Cu = 2,7 mg Fruktose).
   Dieses Inulin wurde aus Wasser eingedampft bei 45° Badtemperatur: 0,94% RW (0,4000 g; 6,73 mg Cu = 3,75 mg Fruktose).
3. Verwendetes Inulin: 0,7% RW (0,3980 g; 4,95 mg Cu = 2,95 mg Fruktose).
   Dieses Inulin wurde aus Wasser eingedampft bei 30° Badtemperatur: 0,74% RW (0,3984 g; 5,33 mg Cu = 2,95 mg Fruktose).

Bei zu hoher Wasserbadtemperatur trat beim Eindampfen der Lösungen Zersetzung des Inulins ein. Als brauchbare Wasserbadtemperatur wurde 30° ermittelt. Diese Temperatur wurde deshalb zum Eindampfen der Mutterlaugen bei der Reinigung benutzt.

2. Triacetylinulin.

Das Inulin wurde nach der von *W. N. Haworth* und *H. R. L. Streight* (21) angegebenen Methode mit Essigsäureanhydrid in Pyridin acetyliert.

Quellung des Inulins im Pyridin.

Versuch 7: Die Quellung des Inulins im Pyridin wurde durch vorhergehende Lösung des Inulins im flüssigen Ammoniak zu erreichen versucht. Das Inulin war vorher im Hochvakuum getrocknet. Das Ammoniak wurde vor jedem Versuch durch Kondensation über metallischem Natrium von Feuchtigkeit befreit. Das Pyridin wurde zweimal mit Ätznatron und einmal mit Bariumoxyd am Rückfluß gekocht und dann destilliert.

Das hochvakuumtrockene Inulin wurde im flüssigen Ammoniak gelöst und zu dieser Lösung das Pyridin unter kräftigem Schütteln hinzu-

getropft. Dabei wurde ein Teil im Pyridin gelöst und der Rest in angequollenem Zustand an der Wand des Gefäßes niedergeschlagen. Nach dem Abdunsten des Ammoniaks wurde auf der Maschine über Nacht geschüttelt. Dabei löste sich ein weiterer Teil des angequollenen Inulins. Das am nächsten Tage noch im Gefäß befindliche nur angequollene Inulin wurde mit frischem flüssigem Ammoniak und mit Pyridin behandelt und so auch in Lösung gebracht. Auf diese Weise konnte ohne Anwendung von erhöhter Temperatur — das Umlösen geschah in siedendem Ammoniak und das Schütteln bei Raumtemperatur — durch mehrfache Wiederholung des Prozesses alles Inulin im Pyridin gequollen werden. In Pyridin gelöstes Ammoniak wurde durch kurzes Sieden der Lösung im Vakuum entfernt.

Eine Probe der Inulin-Pyridin-Lösung wurde im Vakuum zur Trockene gedampft und das zurückerhaltene Inulin nach einmaligem Umfällen aus Wasser, zur Entfernung des Pyridins, auf Stickstoffgehalt geprüft. Die Probe verlief auch mit größeren Mengen negativ. Das zurückgewonnene Inulin hatte außerdem noch gleiche Drehung und gleichen Reduktionswert wie das reine Inulin.

Acetylierung des Inulins.

Versuch 8: Bei der Acetylierung wurde die Vorschrift von *Haworth* und *Streight* (21) genau innegehalten.

Die klare Lösung von Inulin im Pyridin wurde unter starkem Rühren bei 20° in 6 Stunden mit 180 ccm Essigsäureanhydrid auf einen Liter Pyridinlösung versetzt. Dann wurden im Laufe von einer Stunde weitere 370 ccm Essigsäureanhydrid zugegeben. Am nächsten Tage wurde die Lösung in 15 Liter Eiswasser gerührt. Dabei fiel das Triacetylinulin als feines weißes Pulver aus, das sich bald zu Boden setzte und abfiltriert werden konnte. Auf dem Filter wurde es mit destilliertem Wasser gut ausgewaschen und dann getrocknet.

Der Acetylgehalt wurde durch Verseifen mit methylalkoholischer Natronlauge bestimmt; er betrug 45,9% Acetyl. Die Drehung des Inulinacetats war $[\alpha]_D = -33{,}5°$.

Zur Bestimmung des Acetylgehaltes wurden 0,3 g Acetat in 10 ccm Methylalkohol in der Siedehitze gelöst und dann mit 25 ccm n. 5 methylalkoholischer Natronlauge versetzt. Nach 2, 6 und 24 Stunden wurde in Proben von 5 ccm die unverbrauchte Lauge mit n. 10 Schwefelsäure zurücktitriert.

Reinigung des Triacetylinulins.

Versuch 9: Das Triactylinulin wurde durch fraktionierte Fällung aus Benzol mit Petroläther gereinigt. Es wurde in der 20fachen Menge warmen Benzols gelöst und langsam und unter Umschütteln mit Petroläther versetzt. Sobald sich eine Trübung der Lösung einstellte, wurde mit dem Zusatz von Petroläther aufgehört und stehen gelassen. Es setzte sich dann das Triacetylinulin als Sirup zu Boden. Nach dem Abgießen der Mutterlauge wurde am Vakuum getrocknet. Dabei ging der Sirup zum Schaum auf und ließ sich hinterher leicht pulverisieren. Die Proben zur

Drehungsbestimmung wurden 2 Stunden bei 40° am Wasserstrahlpumpenvakuum und 2 Stunden am Hochvakuum getrocknet. Das Triacetylinulin gab die Lösungsmittel beim Trocknen gut ab, so daß sich die Werte leicht reproduzieren ließen. Nach 15 Umfällungen konnte eine Fraktion von $[\alpha]_D = -37{,}2°$ erzielt werden. Bei dieser änderte sich die Drehung durch weiteres Umfällen nicht. Es waren 40 g Triacetylinulin. Diese wurden in 10 Portionen aufgeteilt, die folgende Drehungen zeigten:

1. Fällung	6 g	$[\alpha]_D = -37{,}2°$	Alle Werte bei c = 2 in Chloroform.
2. „	3 g	$[\alpha]_D = -37{,}0°$	
3. „	4 g	$[\alpha]_D = -37{,}1°$	
4. „	2 g	$[\alpha]_D = -37{,}2°$	
5. „	7 g	$[\alpha]_D = -37{,}1°$	
6. „	4 g	$[\alpha]_D = -37{,}3°$	
7. „	3 g	$[\alpha]_D = -37{,}2°$	
8. „	5 g	$[\alpha]_D = -37{,}3°$	
9. „	4 g	$[\alpha]_D = -37{,}2°$	
Mutterlauge	2 g	$[\alpha]_D = -37{,}2°$	
	40 g	$[\alpha]_D = -37{,}2°$ im Mittel.	

Hieraus ergibt sich, daß das Triacetylinulin rein und einheitlich war. Reines Triacetylinulin besitzt die spezifische Drehung von $[\alpha]_D = -37{,}2°$ in Chloroform.

Entacetylierung des Triacetylinulins.

Versuch 10: 5 g im Achatmörser fein gepulvertes Triacetylinulin wurden in 100 ccm absolutem Methylalkohol aufgeschlämmt und mit 25 ccm n/10 Natriummethylat versetzt. Es wurde 60 Stunden auf der Maschine geschüttelt und dann absetzen gelassen. Äußerlich hatte sich die Substanz nicht verändert.

Das feine Pulver wurde abfiltriert und mit Methylalkohol gut ausgewaschen. Nunmehr wurde 2 Stunden am Wasserstrahlpumpenvakuum bei 40° und 2 Stunden bei 60° am Hochvakuum getrocknet.

Die Ausbeute betrug 2,5 g Inulin = 89,5% der Theorie. Die Drehung betrug $[\alpha]_D = -39{,}2°$ und der Reduktionswert wurde zu 0,3% bestimmt (0,4044 g gaben 2,34 mg Cu = 1,25 mg Fruktose).

Der Acetylgehalt ergab sich, ebenso wie beim Acetat bestimmt, zu 0%.

Nach einmaligem Umfällen aus Wasser drehte das Inulin $[\alpha]_D = -40{,}2°$ und hatte einen Reduktionswert von 0,52% (0,3984 g gaben 3,74 mg Cu = 2,1 mg Fruktose).

Das Filtrat der entacetylierten Substanz zeigte keine Drehung.

3. Trimethylinulin.

Die Methylierung von Inulin.

Versuch 11: Die Methylierung wurde, ausgehend vom Acetat, mit Dimethylsulfat und Natronlauge durchgeführt.

In einem Dreihalskolben wurden in 250 ccm reinem destilliertem Aceton 12 g Triacetylinulin gelöst. Zur Entfernung des Luftsauerstoffs

wurde eine halbe Stunde Stickstoff in die Lösung eingeleitet. Der Stickstoffstrom wurde während der ganzen Methylierung laufen gelassen. Unter starkem Rühren wurden bei 55° 120 ccm destilliertes Dimethylsulfat (12 ccm alle 10 Minuten) und 320 ccm 30%ige Natronlauge (32 ccm alle 10 Minuten) zugesetzt. Nach der zweiten Zugabe der Reagenzien trat lebhafte Reaktion ein; unter starkem Sieden der Lösung bildete sich eine Emulsion, die bis zum Schluß der Methylierung blieb. Zum Schluß wurden 100 ccm Wasser hinzugegeben. Dadurch wurde eine Zersetzung des überschüssigen Dimethylsulfats bewirkt. Während einer Viertelstunde wurde die Temperatur auf 75° zur Entfernung des Acetons erhöht. Das Trimethylinulin hatte sich währenddessen, in Klumpen auf der Lösung schwimmend, abgeschieden. Nach Abstellen der Rührung und des Stickstoffstroms wurde es sofort abfiltriert und mit heißem Wasser gewaschen. Das getrocknete Trimetylinulin wurde fein pulverisiert und mit 80° heißem Wasser zur Entfernung der anorganischen Salze extrahiert.

Auf diese Weise wurden 9 Ansätze gearbeitet. Die Ausbeuten sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt. Die Methoxylgehalte wurden nach der von *F. Vjeböck* und *C. Brecher* (43) ausgearbeiteten und von *F. Neumann* (32) für die Polysaccharide abgeänderten Halbmikromethode bestimmt.

	Verwendete Menge Triacetylinulin	Ausbeute an Trimethylinulin	Methoxyl-gehalt
1.	12 g	8 g	44,1%
2.	24 g	19 g	39,6%
3.	12 g	7 g	43,3%
4.	12 g	7 g	39,5%
5.	14 g	9 g	44,7%
6.	12 g	8 g	40,1%
7.	12 g	8 g	44,2%
8.	12 g	8 g	41,0%
9.	12 g	8,5 g	45,2%

Versuche zur Permethylierung von Trimethylinulin mit metallischem Natrium und Lithium und Jodmethyl in flüssigem Ammoniak und Anisol.

Nachdem das Inulin nach der Methode von *Haworth* und *Streight* auf einen Methoxylgehalt von 44,1% gebracht worden war, wollte ich versuchen, auf dem von *Heß* und *Lung* (22) angegebenen Wege Trimethylinulin mit 45,6% Methoxyl herzustellen. Das als Lösungsmittel für das Trimethylinulin benutzte Anisol wurde über Natrium rektifiziert und über Natrium aufbewahrt. Das Ammoniak wurde, bevor es in das Reaktionsgefäß kam, zur Trocknung über Natrium kondensiert. Das Reaktionsgefäß wurde vor jedem Versuch sorgfältig getrocknet und zur Ausschaltung von Luft und Feuchtigkeit mit Stickstoff gefüllt. Das Trimethylinulin wurde vor jedem Versuch 2 Stunden am Hochvakuum bei 60° getrocknet.

Versuch 12: 5 g Trimethylinulin wurden in 50 ccm Anisol gelöst und zu einer Lösung von 0,1 g Natrium in 100 ccm flüssigem Ammo-

niak langsam und unter Umschütteln hinzugetropft. Nachdem die Hälfte hineingelaufen war, war die Natrium-Ammoniak-Lösung farblos geworden. Es wurde deshalb noch einmal 0,1 g Natrium zugesetzt, worauf sich die dunkelblaue Farbe der Lösung sofort wieder herstellte. Das Eintropfen der restlichen Anisollösung bewirkte wiederum Entfärbung, und ich gab zum zweiten Male 0,1 g Natrium zu. Jetzt ließ ich alles Ammoniak absieden und entfernte den letzten Rest durch Absaugen mit der Wasserstrahlpumpe unter Kühlung des Reaktionskolbens mit Eiswasser. Nach Zusatz von 30 ccm Jodmethyl wurde 2 Stunden am Rückfluß bei 75° gekocht. Mit Benzol wurden die Reaktionsprodukte aus dem Gefäß in einen Rundkolben gespült und bei 60° im Vakuum das überschüssige Jodmethyl entfernt. Die Farbe der Reaktionsprodukte war seit dem Entfärben der Natrium-Ammoniak-Lösung hell-ockergelb. Nach Einengen im Vakuum auf die Hälfte wurde mit Benzol aufgenommen und zum Sieden erhitzt. Die anorganischen Salze setzten sich zu Boden und wurden abfiltriert. Das klare, hellgelbe Filtrat wurde zur Fällung des Trimethylinulins mit Petroläther versetzt und der Niederschlag getrocknet. Das erhaltene Trimethylinulin wurde auf Stickstoff geprüft, um zu sehen, ob das Ammoniak mit dem Trimethylinulin in unerwünschte Reaktion getreten war. Die Probe verlief negativ.

Ausbeute: 4 g Trimethylinulin, Methoxylgehalt: 36,54; 36,82%.

Versuch 12a: Der Arbeitsplan bei diesem Versuch war der gleiche wie beim vorhergehenden Versuch. Es wurden auch wieder 5 g Trimethylinulin mit 44,1% Methoxyl in 50 ccm Anisol gelöst; nur die Natriummenge wurde auf 0,4 g erhöht, da im vorigen Versuch das Natrium zweimal verbraucht worden war. Es trat keine Entfärbung der Natrium-Ammoniak-Lösung ein. Beim Kochen am Rückfluß mit Jodmethyl siedete das Reaktionsgemisch erst bei 80°. Beim Ausziehen mit Benzol zur Abtrennung der anorganischen Salze löste sich nur ungefähr ½ g des Trimethylinulins, das einen Methoxylgehalt von 35,75% aufwies. Daraufhin wurde der unlösliche Teil am Vakuum bei 50° getrocknet und dann bei gleicher Temperatur solange mit Wasser ausgezogen, bis dasselbe keine Jodreaktion mehr zeigte. Nach nochmaligem Trocknen löste sich alles restlos in Benzol. Das Trimethylinulin wurde mit Petroläther gefällt und getrocknet.

Ausbeute: 3,7 g Trimethylinulin, Methoxylgehalt: 43,35%; 42,93%.

Da bei beiden Versuchen der Methoxylgehalt abgenommen hatte, obgleich die von *W. Loop* (39) bei der Methylierung von Galaktogen gewonnenen günstigen Erfahrungen hier zunutze gemacht worden waren, machte ich einen letzten Versuch, indem ich das Natrium durch Lithium ersetzte.

Versuch 13: Für diesen Versuch wurden 5 g Trimethylinulin mit 22,2% Methoxyl verwendet. Die Lithiummenge betrug 0,2 g. Gearbeitet wurde wie bei Versuch 1 und 2. Es trat keine Entfärbung der Lithium-Ammoniak-Lösung ein. Beim Abdunsten des Ammoniaks wurde abgesogen. Dabei trat so starke Abkühlung ein, daß der Kolbeninhalt

fest wurde. Nach Auftauen wurden 25 ccm Jodmethyl hinzugegeben, dann restlos im Vakuum abgedampft und noch einmal 50 ccm Jodmethyl zugesetzt.

Ausbeute: 4 g Trimethylinulin, Methoxylgehalt: 43,6%; 43,65%.

Nachdem auch bei diesem Versuch eine Entmethylierung eingetreten war, habe ich diese Methode nicht weiter benutzt.

Permethylierung von Trimethylinulin mit Dimethylsulfat und Natronlauge.

Versuch 14: Um den theoretischen Wert von 45,6% Methoxyl beim Trimethylinulin zu erreichen, wurden die oben erhaltenen Ansätze noch einmal mit Dimethylsulfat und Natronlauge nachmethyliert. Es wurden dazu je 2 Ansätze vereinigt und auf die gleiche Weise wie bei der Methylierung behandelt.

1. Nachmethylierung:

1. Ansatz:

19 g Trimethylinulin mit 39,6% OCH_3.

Ausbeute: 15,5 g Trimethylinulin mit 44,8% OCH_3.

2. Ansatz:

7 g Trimethylinulin mit 43,3% OCH_3,
9 g „ „ 44,7% OCH_3,

16 g Trimethylinulin.

Ausbeute: 15 g Trimetylinulin mit 45,3% OCH_3.

3. Ansatz:

7 g Trimethylinulin mit 39,5% OCH_3,
8 g „ „ 40,1% OCH_3,
8 g „ „ 41,0% OCH_3,

23 g Trimethylinulin.

Ausbeute: 26 g Trimetylinulin mit 43,0% OCH_3.

2. Nachmethylierung:

1. Ansatz:

15 g Trimethylinulin mit 45,3% OCH_3,
8,5 g „ „ 45,2% OCH_3,

23,5 g Trimethylinulin.

Ausbeute: 22 g Trimetylinulin mit 45,6% OCH_3.

2. Ansatz:

15,5 g Trimethylinulin mit 44,8% OCH_3,
26 g „ „ 43,0% OCH_3,

41,5 g Trimethylinulin.

Dieser Ansatz färbte sich bei der Aufarbeitung dunkel. Es konnte kein Trimethylinulin daraus gewonnen werden.

Konstanten des Trimethylinulins.

Versuch 15: Das dargestellte Trimethylinulin zeigte nach je 2stündiger Trocknung am Wasserstrahlpumpenvakuum bei 40° und am Hochvakuum bei 60° eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D = -53{,}8°$ in Chloroform und von $[\alpha]_D \leqq -44°$ (c = 2; 1 dm) in Benzol.

Der Schmelzpunkt lag bei 138°; es schmolz zu einer farblosen Flüssigkeit.

4. Spaltung und Analyse der Spaltprodukte des Trimethylinulins.

Spaltung von Trimethylinulin.

Versuch 16: 20 g Trimethylinulin wurden in 1050 ccm 70%igem Äthylalkohol, der 10,5 g Oxalsäure enthielt, zur Spaltung angesetzt.

Die Lösung wurde 25 Stunden am Rückfluß gekocht. Während dieser Zeit wurde die Drehungsänderung dauernd verfolgt. Es stellte sich eine konstante Enddrehung von +0,3° ein, die sich während der letzten drei Stunden des Versuchs nicht änderte. Es wurde mit Natriumbikarbonat neutralisiert und die ausgefallenen anorganischen Salze abfiltriert. Bei 40° wurde im Vakuum das Lösungsmittel abdestilliert und zur Entfernung der letzten Spuren Wasser dreimal mit einem Gemisch von Alkohol und Benzol abgedampft.

Ausbeute: 22 g Spaltprodukte.

Fruktosidifizierung der Spaltprodukte.

Versuch 17: Die gesamten Spaltprodukte des Trimethylinulins wurden zur Fruktosidifizierung in 400 ccm absolutem Methylalkohol gelöst, der 1% Chlorwasserstoff enthielt. Nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur war die Fruktosidifizierung vollständig, wie durch den Reduktionswert gezeigt wurde. 0,1 g Sirup verbrauchten 2 Tropfen n/10 Permanganatlösung. Im Blindversuch färbte der zweite Tropfen die Lösung rot. Der Reduktionswert war demnach 0%. Die Säure wurde mit Bariumkarbonat neutralisiert. Die ausgefallenen Salze wurden abfiltriert und ausgewaschen. Das Methanol wurde abdestilliert.

Ausbeute: 20 g Fruktoside.

Phosphorylierung der Fruktoside.

Versuch 18: Die Fruktoside wurden in 50 ccm absolutem Pyridin gelöst. Die Lösung wurde auf —20° gekühlt und mit einer ebenso kalten Lösung von 16 g Phosphoroxychlorid in 80 ccm Pyridin langsam versetzt, damit die Temperatur nicht anstieg. Nach ½stündigem Stehen bei dieser Temperatur wurde über Nacht bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Am nächsten Tage wurde bei —15° mit 25 ccm Pyridin-Wasser-Gemisch (4:1) zur Hydrolyse des überschüssigen Phosphoroxychlorids versetzt. Nach einer halben Stunde wurden 400 ccm Wasser zugefügt und mit 100 g Ätzbaryt bis zur alkalischen Reaktion geschüttelt. Das überschüssige Bariumhydroxyd wurde abfiltriert und ausgewaschen. Das Filtrat wurde mit Kohlendioxyd neutralisiert und die von den ungelösten Bariumsalzen getrübte Lösung eingedampft.

Abtrennung der Bariumsalze der Phosphorsäureester.

Versuch 19: Der trockene, feingepulverte Rückstand wurde mit Aceton verrieben. Dabei sollten sich die Phosphorsäureester und das Tetramethyl-methylfruktosid lösen, während das Bariumphosphat und das Bariumkarbonat ungelöst zurückbleiben. Das Abfiltrieren des Niederschlags war nicht möglich, da sich die Poren des Filtrierpapiers sofort zusetzten. Es wurde deshalb mit Äther versetzt, in der Hoffnung, daß die Fällung des Bariumsalzes des Trimethyl-methylfruktosid-phosphorsäureesters den feinen Niederschlag der anorganischen Salze mit zu Boden reißen würde. Da auch jetzt die Niederschläge unfiltrierbar blieben, wurden alle Lösungsmittel abgedampft. Der trockene Rückstand wurde nun mit Wasser verrieben und dann mit Äther 6mal extrahiert. Da das Tetramethyl-methylfruktosid in Äther leicht löslich ist, mußte es jetzt in der Ätherlösung sein. Dieselbe wurde auf ein kleines Volumen eingedampft und mit 1 l Petroläther (30—50°) versetzt; es entstand eine Trübung von dem ausgefällten Bariumsalz des Trimethyl-methylfruktosid-phosphorsäureesters, die sich über Nacht zu Boden setzte und dann abfiltriert werden konnte. Die Lösung wurde nun stark eingeengt und in das Destilliergefäß überführt.

Hochvakuumdestillation der Spaltprodukte.

Alle Destillationen wurden in dem von *F. Neumann* und *K. Heß* (33) angegebenen Destillationskolben ausgeführt. In zwei Versuchen wurde erst einmal das Verhalten der zu erwartenden Spaltprodukte des Methylinulins, des Tetramethyl-methylfruktosids und des Trimethyl-methylfruktosids untersucht. Hauptsächlich sollten diese Versuche zeigen, ob die Substanzen gegen das Kochen mit metallischem Natrium in Benzol beständig sind. Außerdem geben sie die Temperaturen für die Destillation der Spaltprodukte, denn alle Destillationen wurden bei 10^{-4} mm Druck durchgeführt.

Versuch 20: Destillation des Tetramethyl-methylfruktosids.

Das benutzte Tetramethyl-methylfruktosid war aus Methyltritizin gewonnen und besaß einen Methoxylgehalt von 61,33%. Es reduzierte nicht. Davon wurden 120,3 mg in den Destillationskolben gebracht und eine Stunde mit metallischem Natrium in Benzol am Rückfluß gekocht. Es bildete sich auf dem Natrium ein dünner, brauner Belag. Sodann wurde das Benzol bei Atmosphärendruck abgedunstet und das Tetramethyl-methylfruktosid destilliert. Es ging bei 30° Wasserbad und 10^{-4} mm Druck über. Bis dieser Druck erreicht war, befand sich der Destillationskolben in einer Kältemischung. Während der Destillation war die Kühlschlange von einer Kochsalzsole von —10° durchflossen. Nach der Destillation befanden sich am Kühler und in dem darunter aufgehängten Schälchen 117,4 mg Tetramethyl-methylfruktosid. Der Methoxylgehalt war 61,69%. Es war also ein Verlust von 2,9 mg eingetreten.

Der Versuch zeigt, daß das Tetramethyl-methylfruktosid gegen die Behandlung mit metallischem Natrium im siedenden Benzol beständig ist, und daß der Destillationsverlust nicht allzu groß ist.

Versuch 21: Destillation des Trimethyl-methylfruktosids.

Das benutzte Trimethyl-methylfruktosid besaß einen Methoxylgehalt von 51,1%. Der Arbeitsgang war der gleiche wie bei dem oben beschriebenen Destillationsversuch. Der Kolbeninhalt färbte sich dunkelbraun. Es blieb nach dem Abdunsten des Benzols ein dicker, dunkelbrauner Sirup. Das Destillat ging bei 140° Badtemperatur und 10^{-4} mm Druck über und war farblos. Der Methoxylgehalt betrug 42,0%.

Das Trimethyl-methylfruktosid ist gegen die Behandlung mit metallischem Natrium in siedendem Benzol unbeständig. Es tritt Abspaltung der Methoxylgruppen ein.

Versuch 22: Destillation der nach der Abtrennung der Bariumsalze der Trimethyl-methylfruktosid-phosphorsäureester verbliebenen Anteile der Spaltprodukte des Trimethylinulins.

Die in den Kolben nach Abdunsten des Ligroins überführte Substanzmenge betrug 759,8 mg. Sie war nicht ganz frei von Lösungsmitteln. Sie wurde in Benzol aufgenommen und mit Natriumschnitzeln eine Stunde am Rückfluß gekocht. Dabei färbte sich der Kolbeninhalt dunkelbraun. Nach dem Abdunsten des Benzols verblieb ein dickflüssiger, fast schwarzer Sirup. Der Kolben wurde in Kältemischung gesetzt und mit der Hochvakuumdestillation begonnen. Die Kühlschlange war dauernd mit Kochsalzsole von —10° durchflossen. Bei 30° Badtemperatur und 10^{-4} mm Druck destillierte nichts. Auch nach einer Stunde Destillationsdauer war noch nichts übergangen. Es wurde nun die Temperatur des Bades langsam erhöht. Erst bei 50° Badtemperatur zeigten sich einzelne Blasen im Destillationsgut. Bei 80° Badtemperatur kondensierten sich einzelne Tropfen an der Kühlschleife zu einer farblosen Flüssigkeit. Der Methoxylgehalt des Destillats betrug 45,6%. Es konnte kein Tetramethyl-methylfruktosid nachgewiesen werden.

LITERATUR-VERZEICHNIS.

1. *F. I. Averill* und *S. Peat* — Soc. 140, 1244 (1938).
2. *F. W. Bergstrom* und *A. E. Gilmore* — Amer. Soc. 59, 1356 (1937).
3. *E. Berner* — B. 63, 1356 (1930).
4. *E. Berner* — B. 64, 842, 1531 (1931).
5. *E. Berner* — A. 505, 58 (1933).
6. *E. Berner* — B. 66, 397 (1933).
7. *H. Böe* — Diss. Hamburg 1937.
8. *S. R. Carter* und *B. R. Record* — J. Soc. chem. Ind., Chem. u. Ind. 55, 218 (1936).
9. *A. L. Dean* — Am. Chem. Journ. 32, 69 (1904).
10. *Dragendorff* — Jahresber. f. Chemie 1869, 747.
11. *K. Freudenberg* und *H. Boppel* — B. 70, 1542 (1937).
12. *K. Freudenberg* und *R. M. Hixon* — B. 56, 2119 (1923).
13. *K. Freudenberg, E. Plankenhorn* und *E. Boppel* — B. 71, 2435 (1938).
14. *W. N. Haworth* — B. 65, A 43 (1932).
15. *W. N. Haworth* — M. 69, 314 (1936).
16. *W. N. Haworth* und *M. Hirst* — Z. angew. Ch. 45, 769 (1932).
17. *W. N. Haworth, E. L. Hirst* und *E. G. V. Percival* — Soc. 134, 2384 (1932).
18. *W. N. Haworth* und *A. Learner* — Soc. 130, 619 (1928).
19. *W. N. Haworth* und *H. Machemer* — Soc. 134, 2270 (1932).
20. *W. N. Haworth* und *E. G. V. Percival* — Soc. 134, 2277 (1932).
21. *W. N. Haworth* und *H. R. L. Streight* — Helv. XV, 609 (1932).
22. *K. Heß* und *K. H. Lung* — B. 70, 1259 (1937).
23. *K. Heß* und *F. Neumann* — B. 70, 710, 728 (1937).
24. *I. C. Irvine* und *F. N. Montgomery* — Am. Soc. 55, 1988 (1933).
25. *H. Kiliani* — A. 205, 145 (1880).
26. *H. Knoop* — A. 520, 34 (1935).
27. *H. Knoop* — Diss. Hamburg 1932.
28. *K. König* — Diss. Hamburg 1935.
29. *M. J. Liu* — Diss. Hamburg 1934.
30. *W. Loop* — Diss. Hamburg 1936.
31. *I. C. Muscat* — Am. Soc. 56, 693 (1934).

32. *F. Neumann* — B. 70, 734 (1937).
33. *F. Neumann* und *K. Heß* — B. 70, 721 (1937).
34. *P. Ohlmeyer* und *H. Pringsheim* — B. 66, 1292(1933).
35. *H. Peitzner* — Diss. Hamburg 1937.
36. *H. Pringsheim* und *W. G. Hensel* — B. 63, 1096 (1930).
37. *H. H. Schlubach, H. Knoop* und *M. Y. Liu* — A. 504, 30 (1933).
38. *H. H. Schlubach* und *H. Lendzian* — A. 532, 200 (1937).
39. *H. H. Schlubach* und *W. Loop* — A. 532, 228 (1937).
40. *H. Schmidt* — Diss. Hamburg 1935.
41. *H. Staudinger* — Chem. Ztg. 62, 749 (1938).
42. *C. Tanret* — J. Pharm. Chim. 5, 28, 57 (1893).
43. *F. Vjeböck* und *C. Brecher* — B. 63, 2818, 3207 (1930).
44. *B. B. Westfall* und *E. M. Landis* — J. biol. Chem. 116, 727 (1936).
45. *G. Zemplén* — B. 69, 1827 (1936).
46. *G. Zemplén* und *E. Pascu* — B. 62, 1613 (1929).

LEBENSLAUF.

Ich, Wilhelm Paul Heinrich Fritz Elvers, wurde am 31. Mai 1911 in Hamburg geboren. Ab Herbst 1917 besuchte ich die Oberrealschule an der Bogenstraße in Hamburg, die ich mit der Obersekundareife verließ. Ich trat in die Oberrealschule Eppendorf ein und bestand hier im Herbst 1930 die Reifeprüfung. Ab Wintersemester 1930/31 studierte ich in Bonn Chemie. Zum Wintersemester 1932/33 kam ich auf die Hansische Universität in Hamburg. Ich legte hier im Sommersemester 1935 den zweiten Teil des Verbandsexamens ab und widmete mich anschließend der vorliegenden Arbeit.

Während meines Studiums besuchte ich die Vorlesungen und Übungen folgender Dozenten: In Bonn: Blume, Brauns, Hertel, Kippenberger, Konen, Pfeiffer, Rheinboldt, Schmitz-Dumont, Schwarzer, Szivessy, Wizinger; in Hamburg: Albers, Badger, Frers, Harteck, Heitz, Koch, Rabe, Remy, Rose, Schlubach, Wagner, Winkler.